

平成 19 年度分担研究報告書

遺伝子多型と形態学的項目との相互作用を考慮した骨密度の将来予測

分担研究者 大藏 倫博

筑波大学大学院人間総合科学研究科 講師

研究協力者 北村伊都子

国立長寿医療センター研究所疫学研究

研究要旨：本研究では、①大腿骨頸部骨密度の変化率に影響を及ぼす形態学的項目の抽出、② ①で抽出された形態学的項目との交互作用が大腿骨頸部骨密度に影響を与える遺伝子多型の抽出（網羅的検索）、③遺伝子多型と形態学的項目との相互作用を考慮した骨密度の将来予測を目的とし、骨粗鬆症リスク者の早期スクリーニング指標の開発および予防的介入法の開発に寄与することを最終的な目標と位置づけた。対象は、「老化に関する長期縦断疫学研究（NILS - LSA）」の第 1 次～4 次調査に参加した閉経女性 507 名（平均年齢 62.5 ± 8.2 歳）及び男性 883 名（ 58.6 ± 10.6 歳）である。全ての参加者から、事前の説明会において文章による同意を得た。大腿骨頸部骨密度の年間変化率に影響を及ぼす形態学的項目としては、本データの主効果の検討に加え、従来の骨密度と形態学的項目の関連性に関する報告等を加味した結果、BMI・体重・除脂肪量が採用された。また、検索対象とした 177 種類の遺伝子多型のうち、形態学的項目と大腿骨頸部骨密度の変化量との関係に影響を与える遺伝子多型が複数存在することが明らかになった。閉経女性で BMI・体重・除脂肪量のすべてに共通して抽出されたのは ESR22 (estrogen receptor 2(-1213T/C)) であった。最悪の遺伝子多型の組み合わせであっても、BMI 25 を維持することで、骨密度の減少をある程度予防できる可能性が示唆されたことから、閉経女性においては体重や除脂肪量が骨密度に与える影響力は強く、骨粗鬆症予防の観点からは高齢期における体重維持および筋力維持が重要であると考えられた。

A. 研究目的

骨密度の低下（骨粗鬆症）は高齢者における骨折原因の上位に位置することから、骨粗鬆症リスク者の早期スクリーニング（予測）と予防的介入が必要である。骨密度は、性・年齢・食事・運動習慣・服用薬物ほか多くの因子によって影響を受けると

考えられるが、中でも形態学的項目（体重や体脂肪率）と骨密度の関連性、および遺伝子による骨密度への強い影響力が報告されている。そこで、本研究では、遺伝子多型と形態学的項目との相互作用を考慮した骨密度の将来予測おこなうことで、骨粗鬆症リスク者の早期スクリーニング指標の開

発および予防的介入法の開発に寄与することを目的とした。すなわち、①大腿骨頸部骨密度の変化率に影響を及ぼす形態学的項目の抽出、② ①で抽出された形態学的項目との交互作用が大腿骨頸部骨密度に影響を与える遺伝子多型の抽出（網羅的検索）、③遺伝子多型と形態学的項目との相互作用を考慮した骨密度の将来予測である。

B. 研究方法

1. 対象

研究の対象は、「国立長寿医療センター老化に関する長期縦断疫学研究（NILS-LSA）」の第1次調査に参加した閉経女性826名であった。その中から、骨粗鬆症の治療を受けておらず、第1次調査から6年後の第4次調査のうち、少なくとも1回は連続して調査を受け、2年間の変化量の計測が可能であった507名（平均年齢 62.5 ± 8.2 歳）について、延べ1384回の骨密度年間変化率のデータを用いて解析した。男性についても同様に第1次調査に参加した1139名のうちの883名（ 58.6 ± 10.6 歳）を分析対象とし、延べ2288回の骨密度年間変化率のデータを用いて解析した。

調査参加者は愛知県大府市および知多郡東浦町の住民から年齢、性別に層化し無作為に抽出されて選ばれている。全ての参加者から、事前の説明会において文章による同意を得た。

2. 骨密度および年間骨密度変化量

二重X線吸収装置（DXA, Hologic社, QDR4500）を用いて測定した右大腿骨頸部骨密度（以下、BMDと記載する）を用い、連続した2回の調査の骨密度差を2回の調査間の日数で除し、そこから年間骨密度変化量（ $\text{cm}^2/$

年）を算出した。

3. 形態学的項目

本研究では形態学的項目として、次の13項目を使用した：身長、体重、BMI、腹囲（中間）、腹囲（へそ）、臀囲、ウエストヒップ比、体脂肪率（DXA）、体脂肪率（BODPOD）、体脂肪量、除脂肪量、内臓脂肪面積、皮下脂肪面積、腹囲（CT）。

4. 遺伝子検査

第1次調査時にEDTA採血血漿から分離凍結保存されたDNAを用い、蛍光法によるアレル特異DNAプライマー測定システム（東洋紡）を用いてタイピングを行った。本研究の解析時までにはNILS-LSAでタイピングが終了した老化・老年病関連候補遺伝子多型196種の中で解析に必要な多型の分布が得られた177種の遺伝多型について解析をおこなった。

5. 統計処理

① 大腿骨頸部骨密度の年間変化率（ Δ BMD）に影響を及ぼす形態学的項目を抽出するために、MIXED EFFECT MODELを用いた主効果の分析に加え、従来の骨密度と形態学的項目の関連性に関する報告等を加味して検討した。

② ①で抽出された形態学的項目との交互作用が Δ BMDに影響を与える遺伝子多型の抽出するために、形態学項目ごとにMIXED EFFECT MODELを用いて遺伝子多型の網羅的分析をおこない、漸減法により最終的な遺伝子多型を探索した。

③遺伝子多型と形態学的項目との相互作用を考慮した骨密度の将来予測をおこなう予測式を作成した。

解析にはSAS 9.1.3を用い、 $p < 0.05$ を統計的有意とした。

(倫理面への配慮)

本研究は、「疫学研究における倫理指針」ならびに「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」を遵守し、国立長寿医療センターにおける倫理委員会での研究実施の承認を受けた上で実施し、対象者全員からインフォームドコンセントを得ている。

C. 研究結果

1. Δ BMD に影響を及ぼす形態学的項目としては、本データの主効果の検討に加え、従来の骨密度と形態学的項目の関連性に関する報告等を加味した結果、BMI・体重・除脂肪量を採用することにした。
2. BMI との交互作用が Δ BMD に影響を与える遺伝子多型の網羅的解析および漸減法による絞込み (表 1 を参照、以下には漸減法による絞込みの結果を記載した)
(ア) 閉経女性の場合
【優性】LEPR、APOB、ESR22、ADRB12、ENPP1
【劣性】LPA
(イ) 男性の場合
【優性】ACE、AGN、PAI、APO1、PPARD
【劣性】DLST1、OSCAR、FAAH1、CNTF
3. 体重との交互作用が Δ BMD に影響を与える遺伝子多型の網羅的解析および漸減法による絞込み (表 2 を参照、以下には漸減法による絞込みの結果を記載した)
(ア) 閉経女性の場合
【優性】ACE、ESR22、ENPP1

【劣性】LPA

(イ) 男性の場合

【優性】GS、AGN、ADD1、CD14

【劣性】MTP1、VDBP、OSCAR

4. 除脂肪量との交互作用が Δ BMD に影響を与える遺伝子多型の網羅的解析および漸減法による絞込み (表 3 を参照、以下には漸減法による絞込みの結果を記載した)

(ア) 閉経女性の場合

【優性】TGF2、FYN、ESR22、ENPP1

【劣性】NOS3、AGTR5、PRKCH

(イ) 男性の場合

【優性】GS、ADD1、CD14

【劣性】MTP1、VDBP、OSCAR

5. 大腿骨頸部骨密度の将来予測

(ア) 条件を閉経女性・BMI 22 として、遺伝子 ESR22 (estrogen receptor 2(-1213T/C)) の多型による年齢と骨密度変化量の関係を作図した (図 1)。

(イ) 条件を閉経女性・BMI (18、20、22、25 の 3 パターン) として、遺伝子多型の最悪の組み合わせによる年齢と骨密度変化量の関係を作図した (図 2)。

D. 考察

形態学的項目が大腿骨頸部骨密度に強い影響を与えることは、理論的に考えてみてもリーズナブルなことであり、これまでの疫学的研究もそれを裏付けるものが多く報告されている。すなわち、体重 (BMI) そのものが適度な物理的負荷となり、骨形成を促進している可能性が強い。また、体重という負荷を直接伝えるのは筋肉 (骨の付

着部位である靭帯)であるため、筋肉量(筋力)の大小も骨密度に少なからず影響を与えると考えることは否定できないであろう。本研究では、統計的計算の結果に加えて、このような理由から、大腿骨頸部骨密度の年間変化率(Δ BMD)に影響を及ぼす形態学的項目としてBMI・体重・除脂肪量を採用することにした。

BMI・体重・除脂肪量といった形態学的項目との交互作用が Δ BMDに影響を与える遺伝子多型の網羅的解析および漸減法の結果、3つの形態学的項目ごとに数種類のSNPsが抽出されたが特に閉経女性ですべてに共通して抽出されたのはESR22(estrogen receptor 2(-1213T/C))であったことから、本研究では、ESR22について骨密度の将来予測式を作成すると同時に、作図をおこなった(図1)。本推定式ならびに図1によると、BMIは22と仮定し、野生型を有する場合、80歳の骨密度は50歳の時点から約190 mg/cm²低下し、ヘテロ・ホモ型では約250 mg/cm²の低下になることがわかる。ESR22のヘテロ・ホモ型を有する場合には、より一層の骨粗鬆症対策が必要であることがわかる。

次に遺伝子多型の最悪の組み合わせによる今後30年間の骨密度の推定式をBMI 18、20、22、25の場合について作成し、図示した(図2)。この結果によると、BMIが22であっても骨密度の減少量は大きく、80歳までに骨粗鬆症に陥る危険性は極めてたかくなることがわかる。一方、BMI 25であれば、骨密度の減少量は30年間で100 mg/cm²以内に抑えることが可能となり、骨粗鬆症の危険性はかなり低下する。このような観点からも高齢期の低体重は生活機能に悪影

響を与える可能性が示唆されると同時に、高齢者に特化した適正体重(従来のBMI 22)の見直しの必要性が感じられる。

E. 結論

形態学的項目と大腿骨頸部骨密度の変化量との関係に影響を与える遺伝子多型が存在することが明らかになった。

最悪の遺伝子多型の組み合わせであっても、BMI 25を維持することで、骨密度の減少をある程度予防できるかもしれない。

閉経女性においては体重や除脂肪量が骨密度に与える影響力は強く、骨粗鬆症予防の観点からは高齢期における体重維持および筋力維持の重要性も示唆された。すなわち、①適切な食事(指導)による適正体重の維持の重要性、及び②運動(有酸素運動と筋トレ)習慣化による除脂肪量の維持(増加)の重要性である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1.論文発表

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

1. Numao S, Hayashi Y, Katayama Y, Matsuo T, Tomita T, Kazunori K, Nakata Y, Okura T, Tanaka K. Plasma fat concentration increases in visceral fat obese men during high-intensity endurance exercise. Obesity Research & Clinical Practice. 1: 273-279, 2007.
2. Okura T, Nakata Y, Ohkawara K, Numao S, Katayama Y, Matsuo T, Tanaka K. Effect of

- aerobic exercise on metabolic syndrome improvement in response to weight reduction. *Obesity* 15:2478-2484, 2007.
3. 松尾知明, 室武由香子, 齋藤義浩, 大藏倫博, 中田由夫, 田中喜代次. 減量介入前の体格, 食事摂取量, 身体活動量が体重減少量に及ぼす影響. *肥満研究*.13: 154-163, 2007.
 4. Okura T, Nakata Y, Ohkawara K, Numao S, Katayama Y, Ono Y, Matsuo T. Tanaka K. Effects of weight reduction on concentration of plasma total homocysteine in obese Japanese men. *Obesity Research and Clinical Practice* 1:213-221, 2007.
 5. Matsuo T, Okura T, Nakata Y, Yabushita N, Numao S, Sasai H, Tanaka K. The influence of physical activity-induced energy expenditure on the variance in body weight change among individuals during a diet intervention. *Obesity Research & Clinical Practice*. 1: 109-117, 2007.
 6. 柳久子, 奥野純子, 戸村成男, 大藏倫博, 田中喜代次. 軽度要介護者の血中ビタミンDレベルの分布状況とビタミンD・カルシウム製剤補充による介護予防効果—生活機能・身体機能と血中ビタミンDレベルとの関連より— *Osteoporosis Japan* 15:677-681, 2007.
 7. Kitamura I, Ando F, Koda M, Okura T, Shimokata H. Effects of the interaction between lean tissue mass and estrogen receptor gene polymorphism on bone mineral density in middle-aged and elderly Japanese. *Bone* 40:1623-1629, 2007.
- 2.学会発表
(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)
1. 深作貴子, 奥野純子, 柳久子, 戸村成男, 藪下典子, 大藏倫博, 田中喜代次. 介護予防教室における在宅虚弱高齢者への栄養指導による介護予防効果. 第66回日本公衆衛生学会, 愛媛, 2007年10月
 2. 奥野純子, 深作貴子, 戸村成男, 柳久子, 藪下典子, 大藏倫博, 田中喜代次. 開始時のビタミンD濃度とビタミンD補充が虚弱高齢者の介護予防に及ぼす効果. 第66回日本公衆衛生学会, 愛媛, 2007年10月
 3. 中田由夫, 大河原一憲, 片山靖富, 松尾知明, 沼尾成晴, 大藏倫博, 田中喜代次. 食事制限に運動実践を加えることによる効果は肥満度によって異なる: The SMART Study. 臨床運動療法研究会, 大阪, 2007.7.
 4. 大藏倫博, 中田由夫, 大河原一憲, 沼尾成晴, 片山靖富, 松尾知明, 田中喜代次. 食事療法を併用した有酸素性運動の実践がメタボリックシンドロームの改善に与える影響: The SMART Study. 第28回日本肥満学会, 東京, 2007.10.
 5. 藤本幸弘, 大石洋子, 阿部純子, 高柳由紀子, 織田映子, 大藏倫博. エステティック施術と生活習慣改善指導が成人男性の体組成および腹部脂肪に与える効果. 第28回日本肥満学会, 東京, 2007.10.
 6. 中田由夫, 片山靖富, 松尾知明, 大河原一憲, 沼尾成晴, 大藏倫博, 田中喜代次. 肥満者におけるメタボリックシンドローム罹患率と減量に伴う改善率の男女差: The SMART Study. 第28回日本肥満学会, 東京, 2007.10.

7. 笹井浩行、中田由夫、沼尾成晴、大藏倫博、田中喜代次. CT画像を用いた内臓脂肪面積の算出における撮影間および検者間誤差の検討. 第28回日本肥満学会, 東京, 2007.10.
8. 金美芝, 藪下典子, 松尾知明, 大藏倫博, 田中喜代次. 地域在住高齢者における身体パフォーマンス評価指標を用いた身体的虚弱状態スクリーニング法の有効性. 第62回日本体力医学会, 秋田, 2007年9月.
9. 中田由夫, 河原一憲, 片山靖富, 松尾知明, 沼尾成晴, 大藏倫博, 田中喜代次. 食事制限に運動実践を加えることによってもたらされる効果: The SMART Study. 第62回日本体力医学会, 秋田, 2007年9月.
10. 松尾知明, 中田由夫, 大藏倫博, 田中喜代次. リバウンドをもたらしさない減量介入プログラムの開発: Sodegaura Weight Management Study. 第62回日本体力医学会, 秋田, 2007年9月.
11. Sasai H, Katayama Y, Numao S, Nakata Y, Okura T, Tanaka K. Effects of exercise training on metabolic syndrome and its component factor in middle-aged Japanese men. The 54th Annual Meeting of American College of Sports Medicine, New Orleans, June 2007.
12. Matsuo T, Nakata Y, Okura T, Hotta K, Tanaka K. Is peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) genotype a useful predictor for body-weight reduction?. The 54th annual meeting of American College of Sports Medicine, New Orleans, 2007.5.30-6.2.
13. Shigematsu R, Okura T, Nakagaichi M, Tanaka K, Sakai T, Kitazumi S, Rantanen T. Square Stepping Exercise And Fall Risk Factors In Older Adults: A Single-blind Randomized Controlled Trial. The 54th annual meeting of American College of Sports Medicine, New Orleans, 2007.5.30-6.2.
14. Yabushita N, Shigematsu R, Nakagaichi M, Matsuo T, Okura T, Shimura Y, Tanaka K. Primary factors for exercise habituation and physical activity barriers among community-dwelling older adults. The 54th annual meeting of American College of Sports Medicine, New Orleans, 2007.5.30-6.2.
15. J. Okuno, S. Tomura, H. Yanagi, N. Yabushita, T. Okura, K. Tanaka. Relationship between Serum 25-hydroxyvitamin D3 Concentration and Walking Ability, Leg Strength, or Balance in Community-Dwelling Japanese Frail Elderlies. The 29th American Society for Bone and Mineral Research. Honolulu, HI, USA, 2007.9.16~19.
16. 深作貴子, 奥野純子, 柳久子, 戸村成男, 藪下典子, 大藏倫博, 田中喜代次. 在宅虚弱高齢者における食品摂取状況の多様性と生活の質・食習慣との関連. 日本プライマリケア学会, 宮崎, 2007年5月.
17. 中田由夫, 大藏倫博, 田中喜代次, 堀田紀久子. 肥満関連遺伝子が減量効果に及ぼす影響~運動実践の有無を考慮して~: The SMART Study. 第17回日本疫学会, 広島, 2007.1.26-27.

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1.特許取得

なし

2.実用新案登録

なし

3.その他

なし

研究協力者

北村伊都子（国立長寿医療センター研究所
疫学研究）